



***Facultad
de
Ciencias***

**MEDIDA DE LA VELOCIDAD DE
CIRCULACIÓN DE LA SANGRE MEDIANTE
TÉCNICAS DE SPECKLE**

**(Blood flow velocity measurement using laser
speckle techniques)**

**Trabajo de Fin de Grado
para acceder al**

GRADO EN FÍSICA

Autor: David Iglesias Sánchez

Director: Manuel Pérez Cagigal

Junio - 2019

Índice general

1. Introducción	7
1.1. Aplicaciones	8
1.2. Motivación	9
1.3. Estado del arte	9
1.4. Marco teórico	9
1.5. Análisis del contraste de moteado láser	11
1.5.1. Análisis del contraste de moteado láser dinámico	12
1.5.2. Análisis espacial del patrón de moteado láser	14
1.5.3. Análisis temporal del patrón de moteado láser	14
1.6. Características ópticas de los tejidos	15
1.6.1. Absorción en la piel	15
1.6.2. Dispersión de la luz	15
1.7. Tratamiento de la señal	17
1.7.1. Filtro de paso bajo	17
1.8. Limitaciones	17
2. Dispositivo y método experimental	19
2.1. Dispositivo experimental	19
2.2. Método experimental	20
2.2.1. Calibración del dispositivo	21
2.2.2. Relación entre velocidad y contraste de moteado láser	21
2.2.3. Medida <i>in vivo</i>	23
3. Resultados y análisis	25
3.1. Calibración del dispositivo	25
3.2. Relación entre velocidad y contraste de moteado láser	28
3.2.1. Medida con bomba de agua	29
3.2.2. Medidas con pistón	31
3.3. Medida <i>in vivo</i>	34
4. Discusión y conclusión	35
5. Anexos	39
5.1. Anexo I. Código utilizado para el tratamiento de imágenes.	39
5.1.1. Captura continua del vídeo	39
5.1.2. Análisis espacial de una imagen.	44

*A Manuel por inspirarme, dedicando su tiempo a
guiarme durante todo el trabajo.*

*A mi abuelo Pedro por la fabricación del dispositivo que
me ha permitido realizar las medidas cuantitativas y por
su apoyo durante la carrera.*

*A mi padre por enseñarme desde pequeño el mundo
desde un punto de vista científico.*

*A mi novia, Paula, por apoyarme en todo el transcurso
académico.*

*A Jaime Díez por enseñarme python y por todo el
tiempo que hemos pasado haciendo proyectos juntos.*

*Y finalmente a mi madre por ayudarme
a corregir la gramática de este trabajo.*

Resumen

El patrón de moteado láser es un fenómeno causado por las interferencias producidas por dispersiones de luz coherente. Cuando un haz láser incide sobre partículas en distintas posiciones, estas reemiten parte de la luz añadiendo un desfase. Si estas partículas varían de posición el patrón de interferencia cambia. La principal ventaja de estas medidas es la posibilidad de obtener información de un medio sin interacción directa.

Este trabajo se centra en el estudio de la relación entre el movimiento de partículas de macromoléculas de látex y las variaciones del patrón de moteado láser. Una vez realizado este estudio se realiza con una muestra *in vivo* en un dedo.

En este trabajo se ha conseguido relacionar el movimiento de las partículas y las variaciones del patrón de moteado láser. Sin embargo, no ha sido posible aplicarlo a las medidas *in vivo*, debido a la dificultad de medir la velocidad real de la sangre.

El objetivo final de este trabajo es la posibilidad de desarrollar un producto de uso médico para la medida en tiempo real de la velocidad de la sangre, utilizando técnicas de análisis del patrón de moteado láser.

Palabras clave: Moteado láser, velocidad sangre, moteado láser dinámico, análisis dinámico de moteado láser, medida de la velocidad de la sangre.

Abstract

Laser speckle is a phenomenon caused by interferences of scattered coherent light. When a laser beam illuminates particles in different positions, these re-emits a part of light adding a phase shift. If these particles change its position the interference pattern changes as well. The main advantage of these measurements is the possibility of obtaining information about a medium without physical interaction.

The objective of this work is the study of the relationship between the movement of latex macromolecules and changes in the pattern of laser speckle. Once accomplished this study, *in vivo* measurements are going to be taken in a finger.

In this work a relationship between particle movement and changes in the laser speckle pattern has been obtained. However, this model has not been proven in *in vivo* experiment due to difficulties in obtaining real blood flow measurements.

The main goal of this work is the possibility of developing a medical device that could obtain real time measurements of blood flow using laser contrast techniques.

Keywords: *laser speckle*, blood velocity, *LASCA*, dynamic laser speckle analysis, blood flow measurement.

Capítulo 1

Introducción

El moteado láser es un fenómeno óptico que ocurre cuando un haz de luz coherente incide sobre un material que no es liso. La luz, al incidir sobre puntos que se encuentran en distintos planos, es reemitida pero con fases distintas debido a la diferencia de posición de cada partícula. Esta luz reflejada contiene contribuciones de cada punto de la superficie dando lugar a un patrón de interferencia denominado moteado láser o *laser speckle*. En la Figura 1.1 se muestra un patrón de moteado láser obtenido utilizando una cámara digital.

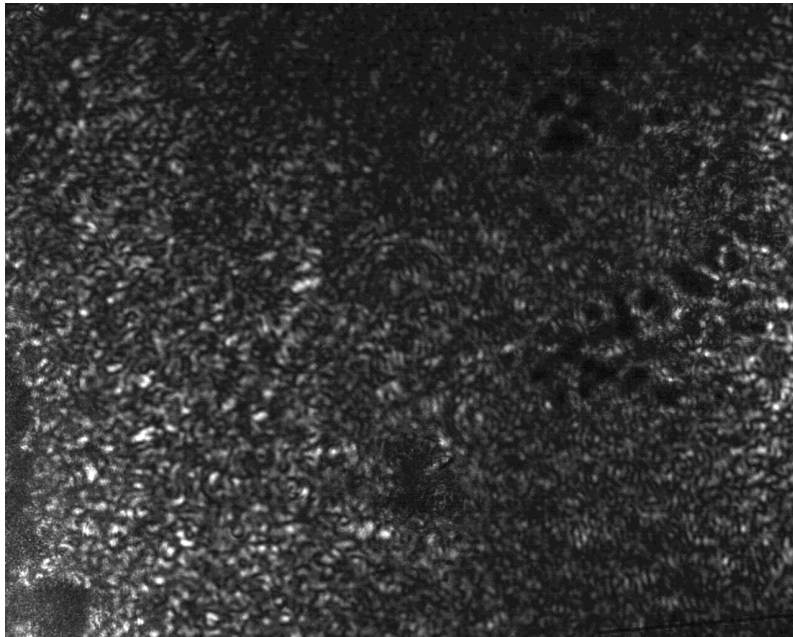


Figura 1.1: Se muestra un patrón de interferencia producido por el fenómeno de moteado láser utilizando una longitud de onda $\lambda = 632 \text{ nm}$.

El patrón de moteado láser se genera debido al desfase de cada frente de onda emitido por cada punto de la superficie y, por lo tanto, cualquier variación en un sólo frente de onda afecta a todo el patrón. Esto implica que el fenómeno no puede ser estudiado para cada punto de la superficie sino estadísticamente como un todo.

Para realizar medidas utilizando métodos estadísticos se deben usar los momentos de la intensidad de la luz detectada. En el caso del patrón de moteado láser se

utiliza el primer momento, la media, y el segundo momento, la varianza. La media se relaciona con la intensidad de la luz de la imagen mientras que la varianza con el contraste de la imagen. Este se define como la diferencia entre puntos claros y oscuros de una imagen. Utilizando estos dos parámetros estadísticos se define un parámetro denominado contraste de moteado láser: la relación entre la desviación estándar y la media.

Este fenómeno se comienza a estudiar debido a las ventajas que ofrece esta técnica, pudiendo caracterizar un medio sin interactuar con él. Una de las primeras aplicaciones es la medida de la circulación de la sangre. En los años 80, A. F. Fercher y J. D. Briers obtienen una imagen del moteado láser de la retina, capturándola con una placa fotográfica[1]. A día de hoy se ha desarrollado teoría y montajes experimentales para realizar capturas de la circulación de la sangre utilizando cámaras digitales y algoritmos que permiten generar imágenes en tiempo real incluso en dispositivos móviles[2].

El interés del desarrollo de las técnicas de análisis del contraste de moteado láser para medir la velocidad o flujo de la sangre en los vasos sanguíneos radica en el bajo coste de la tecnología de medida, las medidas como parte de diagnóstico[3] y que se trate de una técnica no invasiva.

Las publicaciones, desde el desarrollo a partir de los años 80, muestran un gran avance desde el punto de vista teórico y de implementación: se pasa del uso de placas fotográficas al desarrollo de algoritmos para poder visualizar en tiempo real. Sin embargo, uno de los mayores problemas de estas técnicas es la falta de medidas cuantitativas[3]. El objetivo de este trabajo es obtener medidas cuantitativas de la velocidad de la sangre utilizando técnicas de análisis de contraste de moteado láser.

1.1. Aplicaciones

Las técnicas de análisis del contraste de moteado láser tiene distintas aplicaciones basadas en el mismo principio: medida de la variación de una superficie rugosa o partículas a lo largo del tiempo.

Un ejemplo de aplicación de estas técnicas es el estudio del secado de la pintura. La pintura está compuesta por distintos pigmentos y, generalmente, partículas de latex. Cuando se pinta una superficie, la superficie de la pintura se mueve debido a la gravedad, hasta que se seca. Por lo tanto, realizando medidas y análisis de la variación del valor del contraste de moteado láser, se pueden realizar modelos del secado de la pintura, así como saber en qué momento la pintura se encuentra seca, sin utilizar técnicas invasivas[4].

Otra vertiente de uso es en el ámbito de la medicina. Debido a la posibilidad de detección del movimiento de partículas en un medio, como en el caso de los glóbulos rojos en la sangre, posibilita el uso de técnicas de análisis del contraste de moteado láser para la obtención de datos sobre la perfusión sanguínea en los capilares de la piel para el diagnóstico en quemaduras[5].

Otra aplicación ligada al ámbito de la medicina es la ayuda en el tratamiento de marcas de nacimiento en la piel. Y. C. Huang, *et al.* estudiaron la diferencia, utilizando técnicas de análisis del contraste de moteado láser, en la perfusión de la sangre en marcas de nacimiento y piel normal[6].

1.2. Motivación

La aplicación de la física en distintos ámbitos permite mejorar en muchos casos la calidad de vida de las personas. Uno de ellos es el ámbito de la medicina donde distintos avances permiten mejorar o verificar el diagnóstico. Además, las pruebas no invasivas mejoran la calidad de la atención médica proporcionando datos sobre el estado de salud sin comprometer la vida del paciente.

En los últimos años se han asentado distintas técnicas de imagen que proporcionan datos útiles en el ámbito de la medicina utilizando procesos físicos como la generación de rayos X, el efecto Zeeman para las resonancias magnéticas y la generación de imagen por ultrasonidos. Por otro lado, existen técnicas relativamente nuevas que requieren de un estudio y validación en profundidad para poder ser aplicables en el ámbito sanitario.

Uno de estos procesos es la medida de la velocidad de la sangre en venas y capilares utilizando técnicas de análisis del contraste de moteado láser [7]. El moteado láser es el patrón de interferencia que se forma debido a las diferencias de caminos ópticos cuando una superficie rugosa es iluminada por una fuente coherente.

1.3. Estado del arte

Hoy en día, las técnicas de medida más utilizadas para obtener la velocidad o flujo de la sangre en vasos sanguíneos se basan en el efecto Doppler producido al realizar imagen con ultrasonidos[8], como en el caso de las ecografías: al llegar el pulso a una zona donde se encuentra sangre con una velocidad este se refleja con una frecuencia ligeramente superior o inferior, dependiendo si la sangre se acerca o aleja del emisor, pudiendo obtener una medida de la velocidad comparando el pulso original con el reflejado.

Otro método para realizar la medida de la velocidad de la sangre es utilizando el principio de Faraday ya que la sangre está compuesta por hemoglobina, que contiene hierro. Para realizar la medida se induce un campo electromagnético en el vaso sanguíneo y, debido al movimiento de la sangre, se induce un campo eléctrico.[9].

Por último, las resonancias magnéticas pueden medir la velocidad de la sangre. Este método tiene la ventaja de obtener las tres componentes espaciales de la velocidad y medir en zonas internas del cuerpo[10]. Sin embargo, este método es muy costoso.

1.4. Marco teórico

Una onda electromagnética como la luz se compone de un campo magnético y un campo eléctrico acoplados perpendiculares entre sí y la dirección de propagación. Por lo tanto, describiendo la función de onda del campo eléctrico se puede obtener directamente la del campo magnético, y viceversa.

En el caso de una onda plana monocromática la función de onda del campo eléctrico en un punto $P(\vec{r})$ del espacio se puede describir mediante la expresión (1.1):

$$\vec{E}(\vec{r}, t) = \vec{A}e^{(\omega t + \vec{k} \cdot \vec{r})i} \quad (1.1)$$

Siendo \vec{A} la amplitud de la onda electromagnética, ω la frecuencia, t el instante de tiempo, \vec{k} el vector de ondas y \vec{r} el vector de posición.

En el caso de un haz generado por una fuente monocromática y polarizada, ωt permanece constante para cada frente de ondas creado por cada partícula dispersora.

Las ondas electromagnéticas verifican el principio de superposición debido a que la suma de dos o más funciones de ondas que verifican la ecuación de ondas también la verifican. De esta manera, el efecto en un punto P del espacio donde se superponen dos o más ondas es igual a la suma vectorial de cada una de las ondas[11]. La contribución total del campo eléctrico, \vec{E}_T , en el punto $P(\vec{r})$ es de la forma descrita en la expresión (1.2):

$$\vec{E}_T(\vec{r}) = \sum_{n=0}^N \vec{A}_n e^{\vec{k} \cdot \vec{r}_n i} = \sum_{n=0}^N \vec{A}_n e^{\phi_n i} \quad (1.2)$$

Donde la amplitud de cada frente de onda, \vec{A}_n , depende de la naturaleza de la partícula dispersora como el tamaño y la dirección. Como $\vec{k} \cdot \vec{r}_n$ depende del camino óptico recorrido se representa como una fase, ϕ_n . En la Figura 1.2 se muestra el proceso.

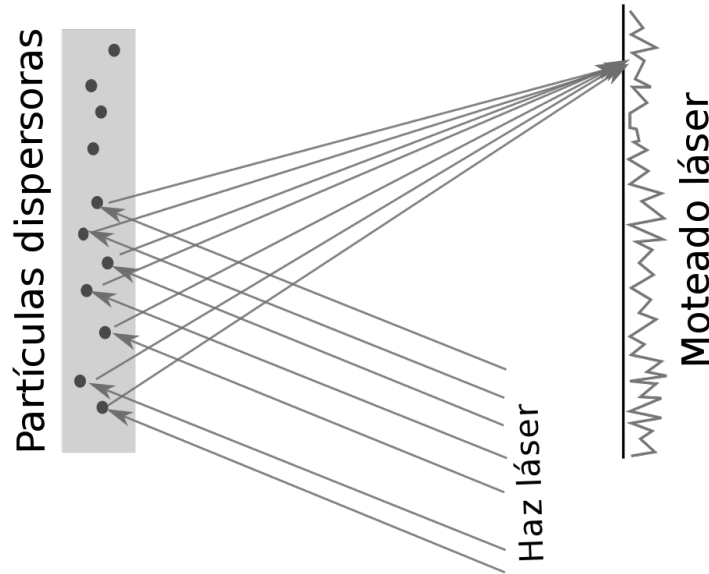


Figura 1.2: Se muestra el proceso de formación del patrón de moteado láser. Un haz de ondas planas y monocromáticas iluminan las partículas que se encuentran en un medio, como en el caso de la sangre. Estas partículas, a su vez, generan nuevos frentes de ondas con distintas fases debido a las diferencias de caminos ópticos. En un punto P interfieren todas las contribuciones y, dependiendo de las fases, se forma un punto de luz, de sombra o intermedio.

En caso de que exista una lente entre las partículas o superficies dispersoras y el plano imagen del patrón de moteado láser, el tamaño del grano de la mota no representa propiedades de las partículas dispersoras iniciales: sólo depende de la longitud de onda y de las propiedades de la lente[12].

La descripción del patrón de moteado láser utilizando la expresión (1.2) para cada punto del plano en el que se forma el patrón de interferencia, con las contribuciones de todas las partículas dispersoras, se complica cuando el número de partículas o su movimiento es muy grande.

En el año 1976 Joseph W. Goodman publicó un artículo donde llega a un resultado del que parte la teoría del análisis del contraste de moteado láser. Si las fases de los frentes de ondas emitidos por cada punto de la superficie se distribuyen de manera aleatoria e independiente dan lugar a una distribución de probabilidad Gaussiana. En este caso, la función de probabilidad de la intensidad viene dada por una función exponencial negativa. Estas funciones tienen la propiedad de que la media es igual a la desviación estándar. Por lo tanto se puede definir una cantidad K denominada contraste de moteado láser o *speckle contrast*, como se muestra en la expresión (1.3) [13]:

$$K = \frac{\sigma}{I} \quad (1.3)$$

Siendo I la intensidad media del patrón de moteado láser. Como esta cantidad es igual a la desviación estándar, $K = 1$ si no hay variaciones.

En la práctica, el valor del contraste de moteado láser es menor a 1, debido a que la desviación estándar, σ , es menor generalmente a I . Esto puede deberse a diferentes factores: en el caso de que la superficie o las partículas que emiten los frentes de onda que dan lugar al patrón de moteado láser varíen de posición con el tiempo, también lo hará la fase de ese frente de ondas debido al cambio de camino óptico, y hará variar todo el patrón de moteado láser. Otra razón es la existencia de un patrón de moteado láser de fondo. Por ejemplo, en el caso de la sangre, la piel y los capilares contribuyen también a la formación de la interferencia.

1.5. Análisis del contraste de moteado láser

El análisis del contraste de moteado láser se realiza tomando imágenes del patrón de interferencia producido en un momento determinado y realizando una serie de operaciones sobre los datos de la imagen.

Una imagen es un mapa en dos dimensiones de intensidades medidas del campo eléctrico que llega a un sensor o a una placa fotográfica. Tanto sensores como placas fotográficas están formadas por una matriz de píxeles en una posición (x, y) . Estos píxeles tienen un tamaño $p_x p_y$ y convierten la señal luminosa que les llega en una señal eléctrica que permite tratarlos electrónicamente.

La captura de una imagen se realiza durante un tiempo de exposición, T . Durante este tiempo cada píxel del sensor integra la intensidad debido al campo eléctrico que llega a su superficie. Esta intensidad integrada viene dada por la expresión (1.4):

$$I(x, y, T) = \int_0^T |E(x, y, t)|^2 dt \quad (1.4)$$

En caso de que el haz láser ilumine partículas en movimiento el patrón de interferencia también varía. Estas variaciones dependen de la densidad de partículas que se encuentran en el material, su naturaleza y el movimiento. Por lo tanto, en general, el mapa de intensidades capturado por la imagen varía entre dos tiempos distintos e $I(x, y, T)$ también depende del tiempo.

1.5.1. Análisis del contraste de moteado láser dinámico

Cuando las partículas se encuentran en movimiento el patrón de moteado láser varía. Esta variación está relacionada con el movimiento de las partículas. En el año 1981, Fercher y Briers obtuvieron una relación entre el contraste de moteado láser y el movimiento de las partículas, que dependía del tiempo de exposición y el tiempo de autocorrelación, τ . Esta expresión es válida para movimientos de las partículas aleatorias. En la expresión (1.5) se muestra la relación [1]:

$$K_L = \sqrt{\frac{\tau}{2T} \left(1 - e^{-2\frac{T}{\tau}}\right)} \quad (1.5)$$

El resultado obtenido por Fercher y Briers, la expresión (1.5), relaciona el valor del contraste de moteado con el tiempo de exposición y el tiempo de autocorrelación. El tiempo de autocorrelación del sistema está relacionado con el movimiento de las partículas ya que a medida que la velocidad de las partículas que forman el patrón de moteado láser aumenta, menor tiempo toma el sistema en variar su configuración y, por tanto, el tiempo de autocorrelación disminuye.

Esta relación muestra que, a medida que el tiempo de exposición aumenta en comparación con el tiempo de autocorrelación la desviación estándar disminuye.

Tras la obtención de la expresión (1.5) se han obtenido expresiones que tienen en cuenta otros efectos como el Doppler y distintos modelos de movimiento de las partículas. Uno de los modelos utilizados para relacionar el valor del contraste de moteado láser con el tiempo de exposición, y el tiempo de autocorrelación es considerando un movimiento Gaussiano de las partículas. Se muestra en la expresión (1.6)

$$K_G = \sqrt{\frac{\tau}{2T} \operatorname{erf}\left(\sqrt{\pi} \frac{T}{\tau}\right)} \quad (1.6)$$

En la Figura 1.3 se muestra la comparación de los modelos descritos en las expresiones (1.5) y (1.6):

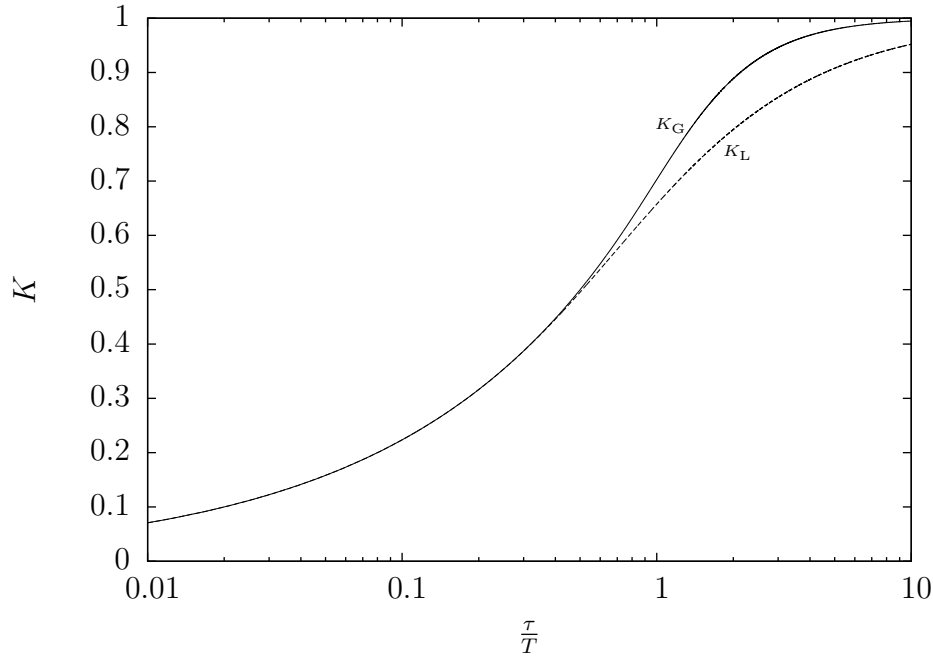


Figura 1.3: Diferencia entre los modelos del movimiento de las partículas y el contraste de moteado láser, K , frente a la relación entre en tiempo de autocorrelación y el tiempo de exposición, τ/T . Se muestra como en el rango 0.01 - 0.2 los dos modelos retornan prácticamente el mismo resultado y, a medida que nos acercamos a 1, los modelos dan distintos resultados.

En la Figura 1.3 se observa la diferencia entre ambos modelos. Para tiempos de exposición del orden de 10 - 100 veces el tiempo de autocorrelación del sistema, ambos modelos proporcionan prácticamente el mismo valor del contraste de moteado láser.

Por otro lado, Briers *et al.* indican que la relación entre el contraste de moteado láser y el movimiento de las partículas descrito por la expresión (1.5) es más apropiada para partículas cuya distribución de velocidades es un movimiento Browniano. Sin embargo, para movimientos de partículas ordenadas es más apropiado un modelo de distribución de velocidades Gaussiano, como el descrito en la expresión (1.6). Aunque, a día de hoy, no existe una solución para elegir el modelo apropiado, autores como Donald D. Duncan y Sean J. Kirkpatrick afirman que la relación entre tiempo de autocorrelación y contraste de moteado láser se encuentra entre los límites de ambas funciones[14].

Por último, se ha descrito y estudiado las posibles relaciones entre contraste de moteado láser y tiempo de autocorrelación sin llegar a una relación entre contraste de moteado láser y velocidad. Briers y Webster introducen en un artículo una relación entre tiempo de autocorrelación y velocidad de correlación, que puede tener una relación directa con la velocidad de las partículas difusoras. Esta relación es inversamente proporcional, como cabe esperar, y se describe en la expresión (1.7)[15]:

$$v = \frac{\lambda}{2\pi\tau} \quad (1.7)$$

Siendo λ la longitud de onda de la luz utilizada.

Una vez propuestos los modelos se explica como realizar el análisis del contraste de moteado láser. Este se puede realizar espacialmente, calculando la intensidad media y la desviación estándar de la imagen del patrón, o temporalmente, calculando el contraste de moteado láser en cada píxel en una serie de fotogramas del proceso.

1.5.2. Análisis espacial del patrón de moteado láser

El análisis espacial del patrón de moteado láser se basa en obtener información sobre la variación del patrón tomando una imagen en un tiempo de exposición. En este caso, la imagen que se forma en el sensor proporciona un mapa de intensidades, de acuerdo a la expresión (1.4), donde se calcula el valor de la intensidad media, utilizando la expresión (1.8) y la desviación estándar, utilizando la expresión (1.9):

$$I = \frac{1}{WH} \sum_{x=0}^W \sum_{y=0}^H I(x, y) \quad (1.8)$$

$$\sigma = \frac{1}{\sqrt{WH}} \sqrt{\sum_{x=0}^W \sum_{y=0}^H (I(x, y) - I)^2} \quad (1.9)$$

Siendo W y H el ancho y alto, respectivamente, de la región de interés e $I(x, y)$ el valor de la intensidad del campo eléctrico obtenido con la cámara.

Por último, se calcula el valor del contraste de moteado láser de acuerdo a la expresión (1.3), que ha sido integrado durante el tiempo de exposición.

En caso de que el tiempo de exposición sea mucho mayor al tiempo de autocorrelación del sistema la imagen capturada habrá integrado muchos estados del sistema y, por lo tanto, la distribución de intensidades será muy homogénea. En este caso, el valor de la desviación estándar de la imagen disminuirá.

Por otro lado, si el tiempo de exposición es mucho menor al tiempo de autocorrelación del sistema la imagen integra pocos estados y análogos entre sí, obteniendo una imagen del patrón de moteado láser con intensidades bien definidas. Por lo tanto, el valor de la desviación estándar será mayor: el contraste de moteado láser es mayor.

1.5.3. Análisis temporal del patrón de moteado láser

A diferencia del análisis espacial, el análisis temporal se realiza sobre un cubo de imágenes, Z , del patrón de moteado láser en tiempos consecutivos. En este caso, la media y la desviación estándar se calcula para cada píxel utilizando los valores del píxel en distintos tiempos. Las expresiones para la media y la desviación estándar se describen en las expresiones (1.10) y (1.11), respectivamente:

$$I(x, y) = \frac{1}{N_Z} \sum_{\zeta=0}^{N_Z} I_{\zeta}(x, y) \quad (1.10)$$

$$\sigma = \frac{1}{\sqrt{N_Z}} \sqrt{\sum_{\zeta=0}^{N_Z} (I_{\zeta}(x, y) - I)^2} \quad (1.11)$$

Siendo N_z el número de imágenes en el cubo e $I_\zeta(x, y)$ el valor de la intensidad del píxel, (x, y) , en la imagen número ζ del cubo.

Una vez obtenida la media y la desviación estándar se calcula, utilizando la expresión (1.3), el contraste de moteado láser en cada píxel.

A diferencia del análisis espacial, el análisis temporal permite obtener mayor resolución espacial ya que se tiene información del contraste de moteado láser en cada píxel. Por otro lado, al tomar un cubo de imágenes en un rango de tiempo largo, se eliminan las contribuciones de los movimientos lentos al contraste de moteado láser. No obstante, el mayor problema es la necesidad de tomar muchas imágenes, disminuyendo la posibilidad de obtener datos en tiempo real.

1.6. Características ópticas de los tejidos

El objetivo de este trabajo es la medida de la velocidad de la sangre utilizando técnicas de análisis del contraste de moteado láser. En este caso, las partículas objeto de medida no se encuentran en contacto directo con el haz de luz láser si no que este tiene que atravesar distintos tejidos hasta llegar a las partículas de interés: los glóbulos rojos.

Hasta llegar a las partículas objeto de interés de medida el haz incidente sufre varios procesos físicos. Los más importantes desde el punto de vista de este experimento son dos: absorción y dispersión.

1.6.1. Absorción en la piel

Los tejidos del cuerpo humano se componen de células que, en la mayoría de los casos, absorben la luz en el rango infrarrojo cercano, visible y ultravioleta (IR-VIS-UV)[16].

En el caso de la piel, en el rango IR-VIS-UV, la luz con mayor longitud de onda penetra más que la luz con menor longitud de onda. Además, en el rango infrarrojo cercano, entre los 600 y 1300 nm, la absorción es mínima[17].

Esto se debe a que la piel esta compuesta por pigmentos que absorben un rango de las longitudes de onda. En concreto, en el rango visible la melanina es el principal causante de la absorción de la luz que penetra en la piel. El espectro tiene un máximo en 350 nm y cae hasta los 700 nm donde la absorción es un orden de magnitud menor[16].

En la Figura 1.5 se muestra el espectro de absorción de glóbulos rojos y hemoglobina cuando se encuentra oxigenada, líneas rojas y cuando se encuentra desoxigenada, líneas azules. Como se observa, el mayor cambio se produce entre los 550 nm y los 750 nm. Este intervalo se puede aprovechar para medir el pulso sanguíneo.

1.6.2. Dispersión de la luz

La dispersión óptica es un proceso por el cual la luz incidente en un material o partícula varía su trayectoria, al ser reemitido por esta, pero en una dirección distinta. Este proceso depende principalmente de las características físicas de la partícula. La

principal diferencia en la naturaleza de la dispersión es el tamaño de la partícula respecto a la longitud de onda que la ilumina.

La dispersión, si no hay variación de energía, se denomina elástica. Los procesos que dan lugar a la dispersión elástica de la luz se pueden dividir en dos: dispersión Rayleigh y dispersión Mie.

La dispersión Rayleigh es un proceso que se produce cuando un haz de luz incide en una partícula de tamaño menor a la longitud de onda. La onda electromagnética induce un momento dipolar en la partícula que radia con la misma frecuencia que la luz incidente, pero en una dirección aleatoria. De esta manera, la dispersión Rayleigh emite en todas direcciones, aunque mayoritariamente hacia delante y hacia atrás[12].

La intensidad de la dispersión Rayleigh aumenta con el cubo de la frecuencia de la luz incidente y por lo tanto, a mayor frecuencia, mayor dispersión[18].

En el caso contrario, cuando el tamaño de la partícula es mayor a la longitud de onda incidente, el fenómeno se describe mediante la dispersión de Mie. Las características de esta dispersión dependen de la longitud de onda y las propiedades de la partícula, como índice de refracción o forma. A diferencia de la dispersión Rayleigh el campo de emisión de la onda es preferentemente hacia delante[12].

Además de la absorción y la dispersión, la luz retrodispersada varía su polarización a medida que el haz penetra en las capas de la piel. Por lo tanto, las primeras dispersiones tienen una polarización similar a la de la luz incidente.

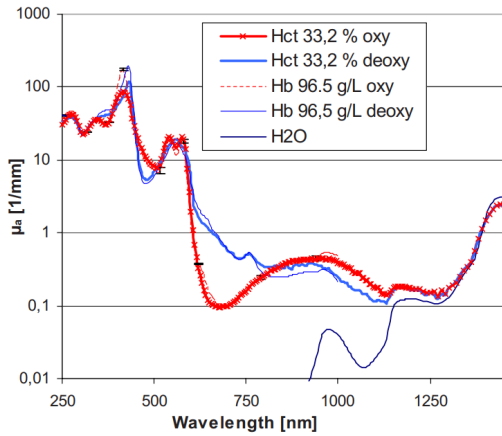


Figura 1.4: Se muestra el espectro de absorción de glóbulos rojos disueltos en solución salina y hemoglobina cuando se encuentra oxigenada, líneas rojas continua y discontinua, respectivamente, y cuando se encuentra desoxigenada, líneas azules. Además, se representa el espectro de absorción del agua. Figura del trabajo de M.Friebel y J. Helfmann[19].

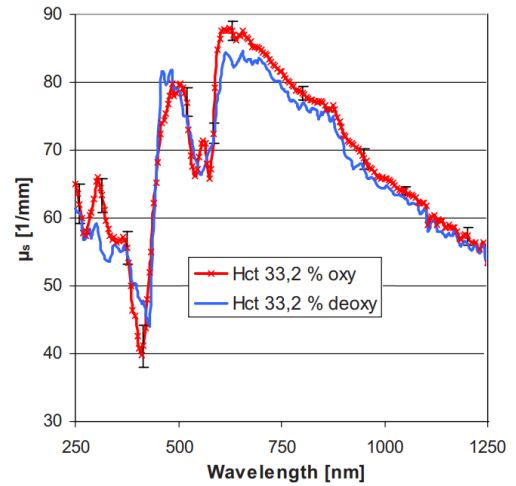


Figura 1.5: Se muestra el espectro de dispersión de glóbulos rojos disueltos en solución salina cuando se encuentra oxigenada, línea roja, respectivamente, y cuando se encuentra desoxigenada, línea azul. Figura del trabajo de M.Friebel y J. Helfmann[19].

1.7. Tratamiento de la señal

Tras realizar la adquisición de las imágenes y obtenido el resultado de análisis espacial o temporal, según el caso, se pueden realizar una serie de operaciones para tratar la señal. En el caso del análisis espacial la señal contiene contribuciones debido a partículas muy rápidas y, por otra parte, señal de fondo debido a partículas muy lentas o estáticas.

El filtrado puede realizarse en el dominio espacial o de las frecuencias, dependiendo de las necesidades.

1.7.1. Filtro de paso bajo

El filtro de paso bajo permite disminuir la contribución de variaciones de altas frecuencias como el ruido debido al montaje experimental o movimientos rápidos de otras partículas distintas a las deseadas.

Un filtro de paso bajo simple en una dimensión es el siguiente: realizar una media ponderada entre el valor actual y el valor anterior de una serie de datos. De esta manera, si la diferencia es muy grande, debido a fluctuaciones rápidas o de paso alto, éstas se disminuyen. El algoritmo se muestra en la expresión (1.12) adaptado a partir de[20]:

$$y[i] = \beta x[i - 1] + (1 - \beta)x[i] \quad (1.12)$$

Siendo x una serie de datos de entrada, y una serie de datos filtrados y β un factor que puede tomar valores entre 0 y 1 para un filtro de paso bajo. Cuando β es más cercano a 0, el filtro de paso bajo atenúa menos la contribución de las variaciones rápidas.

1.8. Limitaciones

En este trabajo se utiliza un método que lleva desarrollándose tanto teórica como experimentalmente desde los años 80. A diferencia de los métodos para medir la velocidad de la sangre descritos en el apartado 1.3, este método emplea luz láser en el rango visible o infrarrojo para realizar las medidas. Uno de los problemas que conlleva es la poca penetración del haz en la piel y, por lo tanto, la medida se restringe a los vasos superficiales.

El interés principal del trabajo es obtener una relación entre la velocidad o el flujo de la sangre y el valor del contraste de moteado láser de manera que, a igualdad condición de medida se obtenga el mismo resultado. El problema de este trabajo es el número de variables que complican la obtención de medidas en condiciones iguales, sobre todo en el caso de realizar medidas *in vivo*.

Capítulo 2

Dispositivo y método experimental

2.1. Dispositivo experimental

Para realizar las medidas se ha utilizado un montaje que proporciona una imagen del patrón de moteado láser a partir de la retrodispersión en el campo de detección. De esta manera, se eliminan efectos debido a la geometría del material en el que se encuentran las partículas. Además, permite realizar medidas en la superficie de distintas partes del cuerpo ya que no se pierde la señal debido a que el haz tenga que atravesar una capa gruesa de tejido hasta ser medida.

Como fuente de luz coherente se ha utilizado un láser rojo de He-Ne con una longitud de onda de $\lambda = 632$ nm ya que, como se ha comentado en el apartado 1.6.1, en longitudes de onda de visible más largas, la absorción de la piel es menor. Por otro lado, los glóbulos rojos oxigenados presentan un pico de dispersión mayor en el rango de los 650 - 750 nm que en otras longitudes de onda, de acuerdo al trabajo de Moritz Friebel *et al* [19]. Esto permite obtener mayor cantidad de luz retrodifundida utilizando una longitud de onda cercana al máximo. Además, de acuerdo a la ley de dispersión Rayleigh, las longitudes de onda mayores se dispersan menos que las longitudes de onda cortas, permitiendo mayor poder de penetración en la piel hasta llegar a un capilar donde se realice la medida.

Para realizar las medidas sobre las partículas disueltas en fluido o partes del cuerpo, se utiliza un portamuestras dispuesto de manera paralela al plano del suelo para facilitar la medida. Este portamuestras tiene un espejo para que el haz del láser incida sobre la muestra y vuelva la luz retrodifundida en una dirección distinta. De esta manera la luz retrodifundida se hace pasar por distintos elementos ópticos: una lente junto con un diafragma para controlar la apertura y un polarizador lineal. Como la luz emitida por el haz láser está linealmente polarizada, se hace pasar la luz retrodifundida por un polarizador lineal para filtrar parte de la luz que proviene de la primera dispersión, como se comentó en el apartado 1.6.2, eliminando parte de la señal debido a la interfase aire-tejido.

En la Figura 2.1 se muestra el montaje donde se ha añadido la ruta que sigue el haz láser.

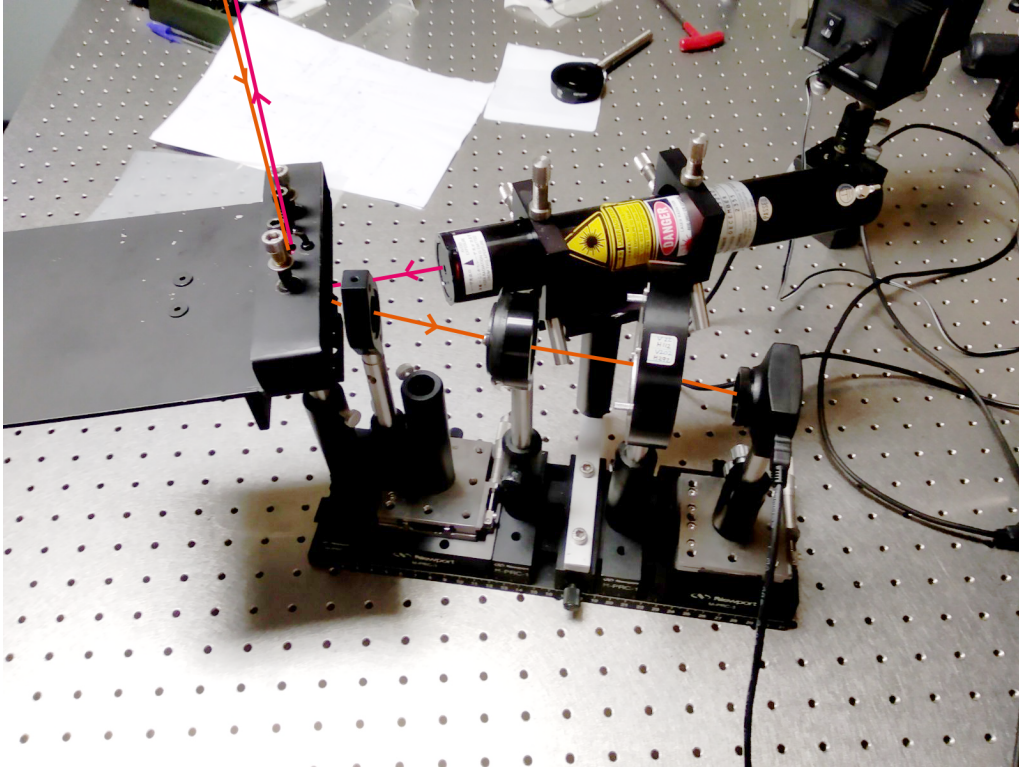


Figura 2.1: Se muestra el montaje experimental del dispositivo utilizado para realizar las medidas en el experimento, donde se observan todos los elementos descritos anteriormente, siguiendo el camino óptico: láser de He-Ne fuente del haz, portamuestras, lente para enfocar la luz retrodifundida al diafragma para controlar el paso de luz, un polarizador lineal para disminuir la luz retrodifundida en las primeras dispersiones y, por último, la cámara donde se capturan las imágenes. Se muestra en color magenta el haz proveniente del láser y en naranja la luz retrodifundida. Ambos haces son de la misma longitud de onda.

El dispositivo mostrado en la Figura 2.1 ha sido utilizado anteriormente en otros trabajos.

Para realizar la toma de imágenes se utiliza una cámara con detector CMOS de la marca uEye con una resolución de 1280x1024. El análisis de las imágenes para realizar las medidas se realiza en modo espacial, permitiendo obtener información en tiempo real.

2.2. Método experimental

El método seguido en este trabajo consta de tres partes:

- Calibrar el dispositivo experimental con la circulación de macromoléculas de látex disueltas en agua.
- Estudiar la relación entre la velocidad del fluido con macromoléculas de látex y la variación del contraste de moteado láser.
- Realizar medidas *in vivo* de contraste de moteado láser.

2.2.1. Calibración del dispositivo

Para realizar la calibración del dispositivo experimental se utiliza una disolución de macromoléculas de látex en agua que circula por un circuito cerrado con una bomba de agua. Este circuito está formado por tubos transparentes para realizar las medidas con el láser. Se realizan medidas para distintos tiempos de exposición T y se busca el rango más apropiado para la realización de medidas.

Por otro lado, en esta parte se intenta establecer una relación entre la velocidad del fluido y el valor del contraste de moteado láser, de manera cualitativa.

2.2.2. Relación entre velocidad y contraste de moteado láser

Una vez calibrado el dispositivo y obtenidos los parámetros apropiados para obtener medidas de la variación del contraste de moteado láser con la velocidad del fluido, se quiere obtener la relación entre la velocidad y el contraste de moteado láser y, si es posible, la reproducción de las medidas.

Para ello, se utilizan varios métodos:

Bomba de agua

Con una bomba de agua de acuario se obtiene un flujo constante de agua con macromoléculas de látex que circulan en un circuito cerrado de tubos transparentes de plástico.

Para realizar las medidas, se fija en el portamuestra un segmento del tubo y se realizan medidas presionando el tubo en mayor o menor medida. De esta forma se controla el flujo de agua con macromoléculas que circulan en el circuito. Estas medidas se realizan lejos del punto donde se presiona el tubo obteniendo menor flujo a medida que más se aprieta.

Sin embargo, con este método no se obtienen resultados cuantitativos sino la comprobación de la repetibilidad del experimento.

Medida con pistón

Uno de los mayores problemas del experimento es la medida del flujo del líquido. Para resolverlo se ha optado por utilizar un dispositivo formado por una jeringuilla con un émbolo movido por un contrapeso. Así se controla la velocidad del fluido. Para ello, se utiliza una videocámara que graba un vídeo del movimiento del émbolo para medir su velocidad.

De esta forma, modificando la posición del contrapeso, se varía la velocidad del fluido compuesto por agua y macromoléculas de látex.

El dispositivo utilizado se muestra en la Figura 2.2:



Figura 2.2: Se muestra el dispositivo empleado para realizar las medidas cuantitativas de la velocidad del fluido. Se distingue la jeringuilla con el émbolo y el contrapeso de posición variable.

Para transformar las medidas de velocidad de ml s^{-1} a mm s^{-1} se utilizan las medidas del tubo utilizado durante este experimento. El diámetro interior es de $d = (2,60 \pm 0,14)$ mm y, por lo tanto, la sección es de $S = (5,30 \pm 0,60)$ mm^2 . Siendo 1 ml de agua 1000 mm^3 , la conversión utilizada en este experimento se muestra en la expresión (2.1):

$$1 \text{ ml}^{-1} = (190 \pm 20) \text{ mm s}^{-1} \quad (2.1)$$

2.2.3. Medida *in vivo*

Las medidas *in vivo* son el último paso de este trabajo. Estas medidas se realizan sobre uno de los dedos de la mano debido a la sencillez de acoplarlo al dispositivo experimental.

Debido a que el análisis del patrón de moteado láser detecta movimientos de magnitudes muy pequeñas las medidas se realizan en pares: una medida con el dedo obstruido y otra sin obstruir. Esto se realiza para evitar que el movimiento involuntario corporal invalide los resultados. En las Figuras 2.3 y 2.4 se muestran la forma en la que se han realizado las medidas:

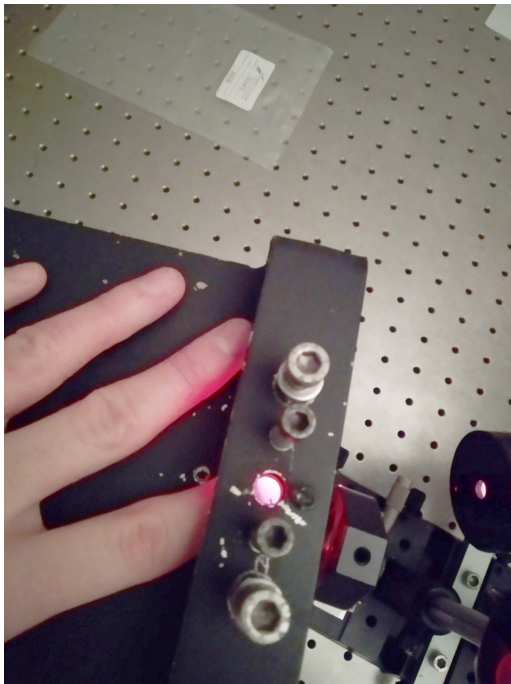


Figura 2.3: Se muestra la forma de medida del flujo de sangre en el dedo sin obstruir colocado sobre el portamuestras.

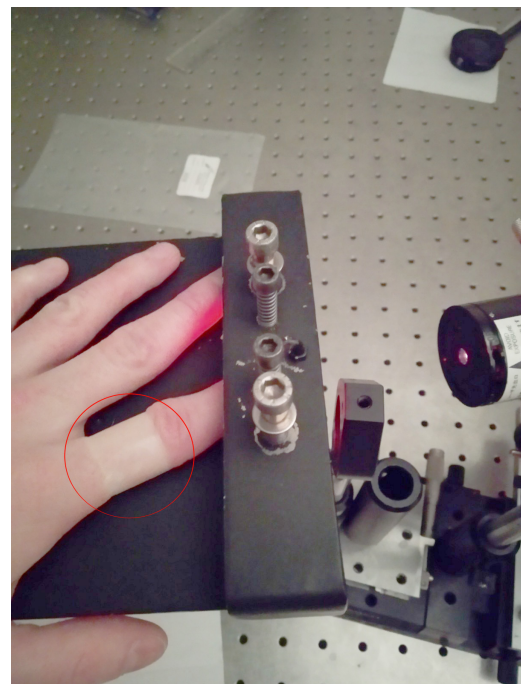


Figura 2.4: Se muestra la forma de medida del flujo de sangre en el dedo obstruido colocado sobre el portamuestras. En el círculo rojo se muestra la cinta adhesiva para disminuir el riesgo sanguíneo.

Capítulo 3

Resultados y análisis

Una vez establecidos los objetivos y el modo de trabajo, se realizan las medidas descritas anteriormente. Posteriormente, se realiza el tratamiento y análisis de los datos obtenidos en los experimentos.

Debido a la cantidad de imágenes que se deben analizar y que cada imagen contiene del orden del millón de píxeles todos los cálculos se realizan utilizando programas cuyo código fuente y documentación se puede ver en el Anexo I.

3.1. Calibración del dispositivo

Para realizar la calibración del dispositivo se han llevado a cabo medidas y análisis del contraste de moteado láser de patrones obtenidos con distintos tiempos de exposición activando la circulación de la bomba de agua mientras se captura un vídeo.

Se han realizado vídeos con tiempos de exposición entre $T = 1$ ms y $T = 15$ ms. De esta forma, se obtiene el tiempo de exposición para realizar las medidas, que es aquel que permite obtener medidas del mayor rango de velocidades, de manera que el patrón de moteado láser obtenido en la imagen no sea estático, con tiempos de exposición muy bajos, o totalmente difuso, debido a tiempos de exposición muy grandes. Para realizar medidas con la bomba de agua utilizada se observa una mejor respuesta en los resultados en tiempos de exposición de $T = 5$ ms y $T = 10$ ms, que serán los utilizados a partir de ahora.

En las Figuras 3.1 y 3.2 se muestran dos fotogramas extraídos del vídeo de una medida. Esta medida se ha realizado con un tiempo de exposición $T = 10$ ms a 10 fotogramas por segundo. Debido a que el tiempo entre exposiciones es mucho mayor al tiempo de exposición, de 90 ms en este caso, que tiene que ver con el tiempo de correlación del sistema cuando se observan cambios, se espera que los fotogramas estén decorrelados entre sí.

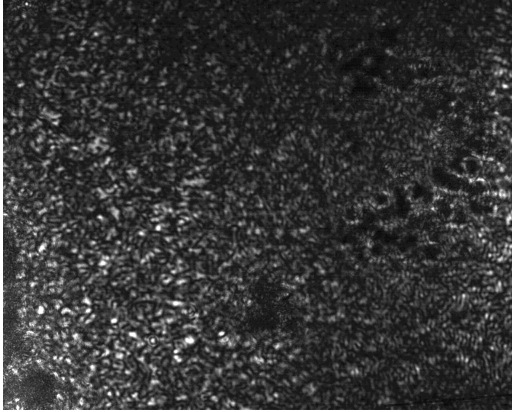


Figura 3.1: Fotograma número 14 extraído de un vídeo en el que se observa el patrón de moteado láser. Este fotograma se obtiene antes de activar la bomba de agua que hace circular el contenido de agua con macromoléculas de látex.

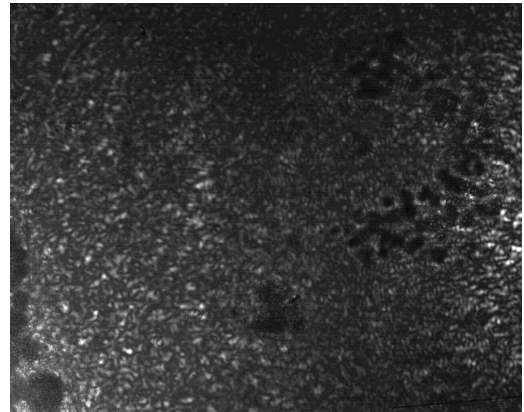


Figura 3.2: Fotograma número 64 extraído de un vídeo en el que se observa el patrón de moteado láser. Este fotograma se obtiene mientras la bomba de agua se encuentra activa, haciendo circular el contenido de agua con macromoléculas de látex.

El primer análisis realizado es la variación de la desviación estándar con el tiempo ya que es una medida del contraste de una imagen. Observando a simple vista las Figuras 3.1 y 3.2, cuando la bomba de agua se encuentra activa la imagen es menos nítida debido a la variación del patrón de moteado láser durante el tiempo de exposición. La desviación estándar de la imagen de la Figura 3.1 es $\sigma = 3,81$ mientras que la imagen de la Figura 3.2 es de $\sigma = 3,03$.

Si se realiza el cálculo de la desviación estándar en todos los fotogramas del vídeo, como se muestra en la Figura 3.3, se observa cómo el valor de la desviación estándar descende como consecuencia del movimiento del fluido:

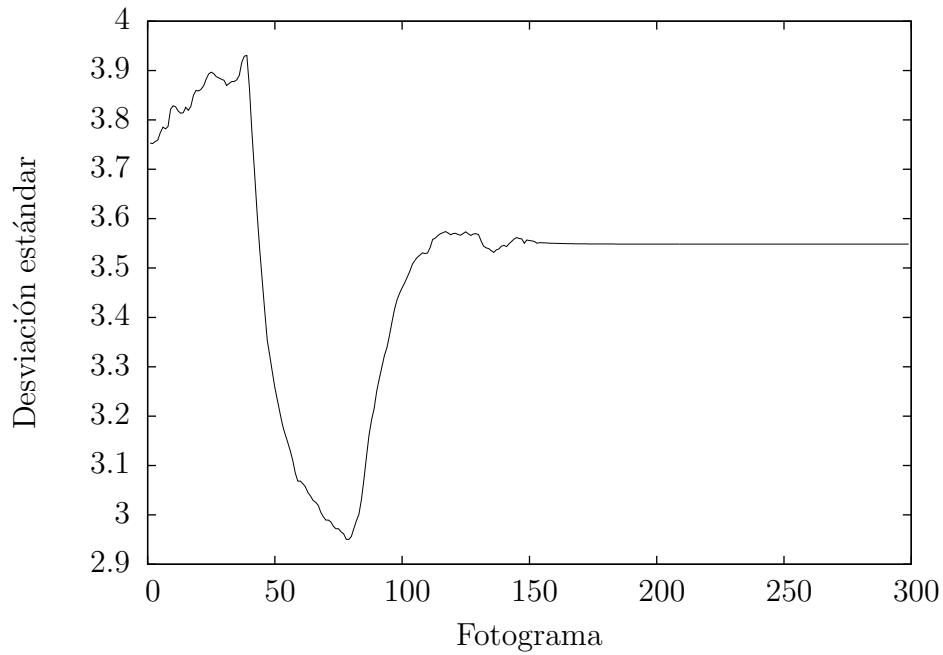


Figura 3.3: Se muestra la desviación estándar del fotograma frente al número de fotograma. Se observa cómo desciende al encender la bomba de agua y cómo se recupera al apagarla.

Como se observa en la Figura 3.3 la desviación estándar desciende al activar la bomba de agua. Sin embargo, el valor antes y después no es igual, aunque posteriormente se mantenga constante. En el siguiente apartado se analizará si teniendo en cuenta la intensidad media en el cálculo este efecto se elimina.

Tras obtener medidas de la desviación estándar que varían con el movimiento de las partículas, se calcula la variación del valor del contraste de moteado láser de los patrones obtenidos, como se ha definido anteriormente en la expresión (1.3), calculando la intensidad media y la desviación estándar en el dominio espacial [expresiones (1.8) y (1.9)]. Se muestra en la Figura 3.4:

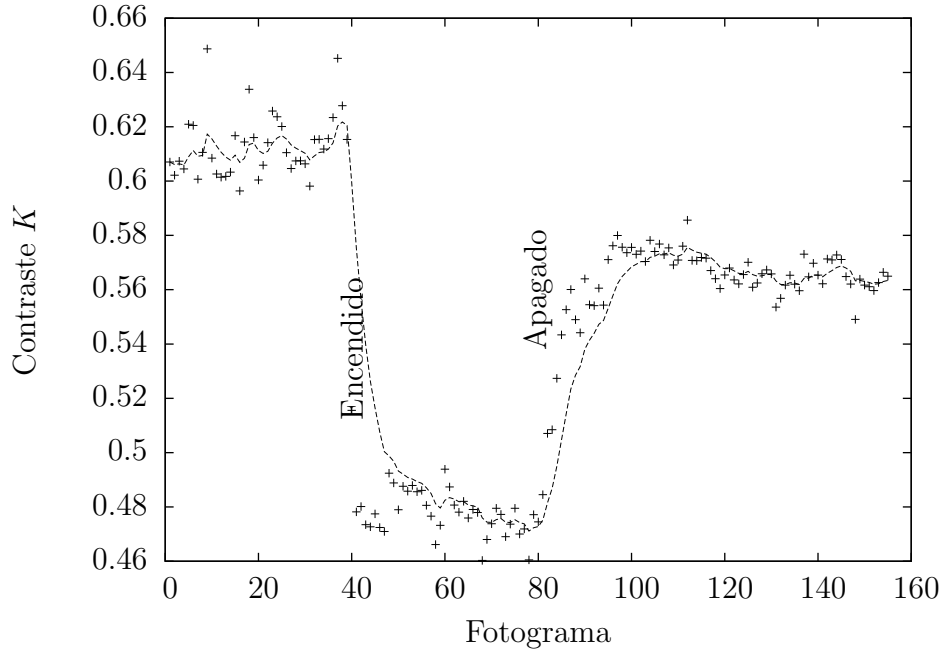


Figura 3.4: Se muestra el valor del contraste de moteado láser de cada fotograma definido por la relación entre la desviación estándar y la intensidad media del fotograma frente al número de fotograma. Los valores del cálculo directo del valor del contraste de moteado láser de cada fotograma se representan por los símbolos + mientras que la línea punteada representa la unión de los valores a los que se les ha realizado un filtrado de paso bajo como se muestra en la expresión 1.12, con un valor $\beta = 0,8$. Se observa cómo desciende el valor al encender la bomba de agua y cómo se recupera al apagarla como se espera en la teoría.

A diferencia de la Figura 3.3 al calcular el valor del contraste de moteado láser se tiene en cuenta la intensidad media de la imagen y, por tanto, las variaciones posibles en la iluminación. De esta manera se reducen efectos como los observados en el principio de la Figura 3.3.

La existencia de una relación entre la velocidad del fluido y el contraste de moteado láser es visible en la Figura 3.4. Sin embargo no se ha conseguido todavía una medida de la velocidad. Como se observa en esta figura los valores del contraste de moteado láser antes y después de activar la bomba son distintos.

3.2. Relación entre velocidad y contraste de moteado láser

Una vez comprobada la existencia de una relación entre el movimiento del sistema físico que se mide y el valor del contraste de moteado láser calculado se procede a estudiar si existe una relación entre velocidad y contraste. Para ello, se realizan dos experimentos: una medida con una bomba de agua en la que el tubo se presiona para variar el flujo y mantenerlo constante, sin medir cuantitativamente la velocidad, y medidas con un pistón con el que se mide la velocidad.

3.2.1. Medida con bomba de agua

La medida con la bomba de agua se realiza para obtener una relación entre la velocidad del fluido y el valor del contraste de moteado láser. Esta medida es cualitativa ya que no se mide la velocidad del fluido sino que se aprieta el tubo para controlar el flujo del líquido en mayor o menor medida. Con este experimento se comprueba si se puede reproducir el experimento de manera que dos medidas independientes con la misma configuración de valores iguales del contraste de moteado láser. Se toman 2 medidas del valor del contraste de moteado láser frente al tiempo para cada configuración de velocidad de flujo.

En las Figuras 3.5 a 3.8 se muestra una de cada una de las medidas para cada configuración de velocidad. Se muestra el valor del contraste de moteado láser frente al fotograma. Durante la medida se enciende y apaga la bomba para obtener la variación entre el valor del contraste de moteado láser sin movimiento de fluido y con movimiento del fluido. Todas las medidas se realizan con un tiempo de exposición de $T = 5$ ms a 10 fotogramas por segundo.

Estas medidas se realizan utilizando el código mostrado en el Anexo I, apartado 5.1.1.

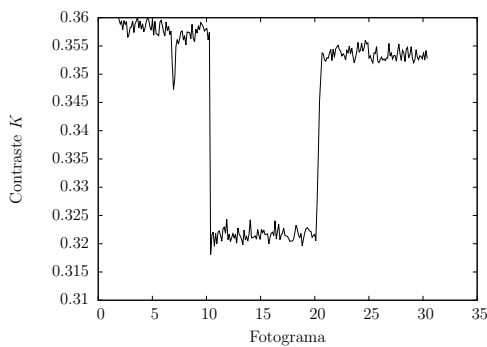


Figura 3.5: Se muestra el valor del contraste de moteado láser obtenido frente al número de fotograma cuando no se aprieta el tubo (Configuración A). Se observa cómo al activar la bomba el valor del contraste de moteado láser decae.

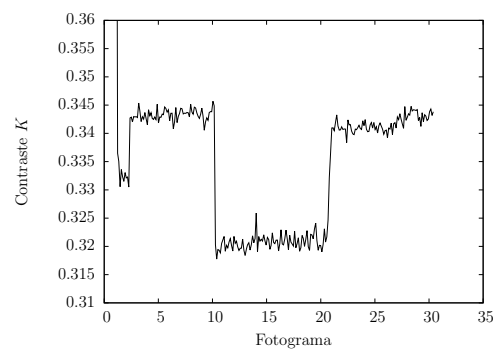


Figura 3.6: Se muestra el valor del contraste de moteado láser frente al número de fotograma cuando se aprieta el tubo 1/3 del total (Configuración B). Se observa cómo al activar la bomba el valor del contraste de moteado láser decae.

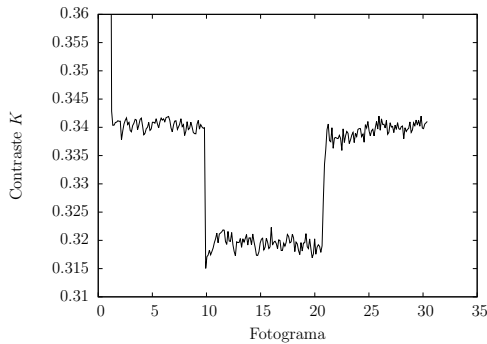


Figura 3.7: Se muestra el valor del contraste de moteado láser obtenido frente al número de fotograma cuando se aprieta el tubo 2/3 del total (Configuración C). Se observa cómo al activar la bomba el valor del contraste de moteado láser decae.

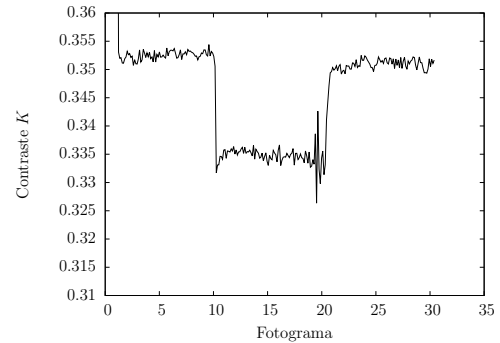


Figura 3.8: Se muestra el valor del contraste de moteado láser obtenido frente al número de fotograma cuando se aprieta el tubo 3/3 del total (Configuración D). Se observa cómo al activar la bomba el valor del contraste de moteado láser decae.

Como se observa en las Figuras 3.5 a 3.8 el valor del contraste de moteado láser decae al encender la bomba de agua y se recupera al apagarla. Sin embargo, aun siendo medidas consecutivas, hay un desplazamiento de los valores iniciales. Una solución que se propone es medir la variación del contraste de moteado láser al activar la bomba de agua para cada velocidad y de esa manera la comparación entre contrastes tenga sentido.

El análisis de la variación del contraste de moteado láser frente a la velocidad se realiza de la siguiente manera: se utilizan los valores del contraste antes de activar la bomba de agua, siempre que su variación sea pequeña, y se obtiene su media y desviación estándar. Se realiza el mismo cálculo para los valores del contraste de moteado láser cuando la bomba se encuentra activada.

En la Figura 3.9 se muestra la variación del contraste de moteado láser frente a la medida de la velocidad. Como es de esperar a medida que la velocidad disminuye la variación del contraste disminuye.

3.2. RELACIÓN ENTRE VELOCIDAD Y CONTRASTE DE MOTEADO LÁSER31

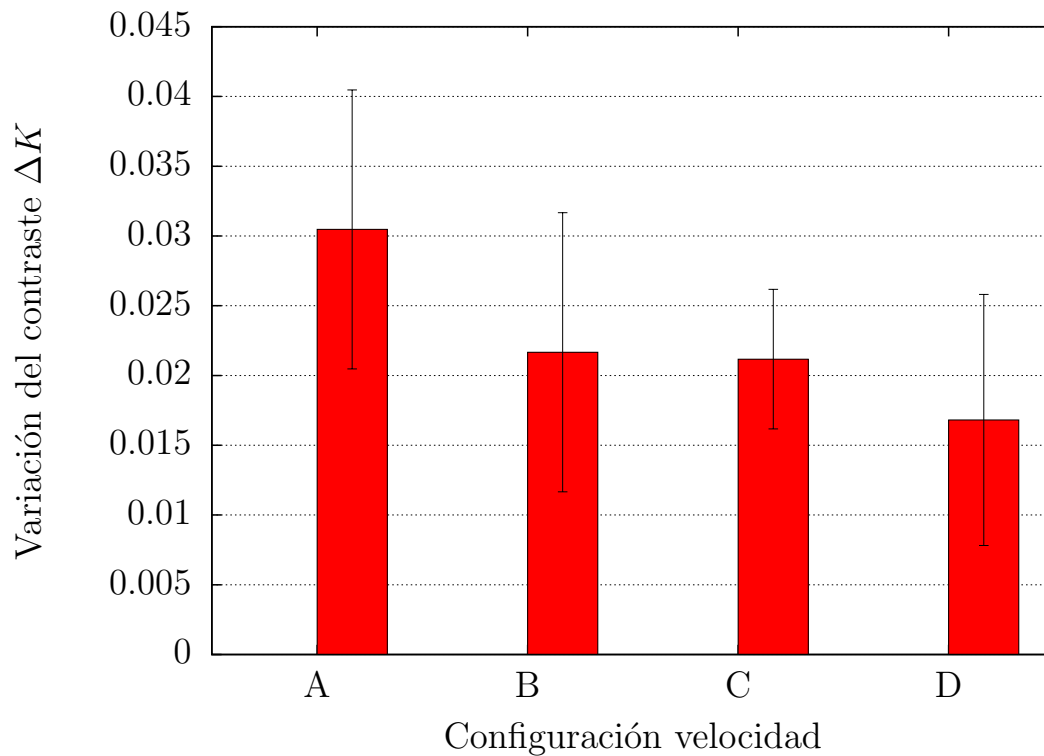


Figura 3.9: Se muestra la variación del contraste de moteado láser utilizando dos medidas frente a la medida de la velocidad, siendo la velocidad de A mayor que la de B y así sucesivamente. Se observa cómo la variación es menor al disminuir la velocidad como se espera según el modelo teórico. Estas medidas son cualitativas pero permite estudiar la reproducibilidad del experimento siendo uno de los mayores problemas al realizar medidas cuantitativas.

Como se observa en la Figura 3.9 a medida que desciende la velocidad la variación del contraste de moteado láser entre el reposo y la activación decae. Sin embargo, todavía no se ha conseguido una cuantificación respecto al flujo del líquido.

3.2.2. Medidas con pistón

Utilizando el dispositivo formado por la jeringuilla y el contrapeso se han realizado grabaciones del valor del contraste de moteado láser y del movimiento del émbolo para medir la velocidad. En las Figuras 3.10 y 3.11 se muestran dos posiciones distintas del émbolo de donde se ha tomado una de las medidas.



Figura 3.10: Se muestra el detalle del émbolo en el dispositivo experimental para realizar la medida de la velocidad. Fotograma en $t = (10,338 \pm 0,012)$ s.

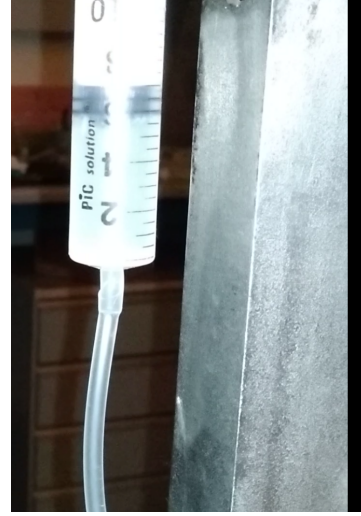


Figura 3.11: Se muestra el detalle del émbolo en el dispositivo experimental para realizar la medida de la velocidad. Fotograma en $t = (12,149 \pm 0,012)$ s.

Se han realizado 6 medidas con un tiempo de exposición $T = 10$ ms para obtener la relación entre la velocidad del fluido y el valor del contraste de moteado láser. Se ha ido variando la posición del contrapeso para variar la velocidad. Estas medidas han sido realizadas tras tomar otras y con un espaciado de 5 minutos para evitar errores debido al movimiento o agregaciones de las macromoléculas.

En la Tabla 3.1 se muestran los datos de segundos cada 2 ml, t_{2ml} , la velocidad lineal utilizando el factor de conversión definido en la expresión 2.1, el valor medio y desviación estándar obtenido a partir de los valores del contraste de moteado láser antes del movimiento del fluido, $K_1 \pm \sigma_{K1}$, y mientras el fluido se encuentra en movimiento, $K_2 \pm \sigma_{K2}$, así como la variación de valor del contraste de moteado láser, ΔK :

$t_{2ml} \pm 0,012$ / s	v / mm s ⁻¹	K_1	K_2	ΔK
1.811	210±20	1.022±0.008	0.862±0.007	0.160±0.010
1.268	230±30	1.066±0.011	0.894±0.008	0.172±0.011
0.964	390±40	1.065±0.008	0.876±0.012	0.189±0.012
0.701	540±60	1.084±0.005	0.887±0.010	0.200±0.010
0.665	570±60	1.100±0.017	0.911±0.008	0.189±0.017
0.646	580±60	1.102±0.005	0.896±0.008	0.206±0.008

Tabla 3.1: Se muestran los resultados obtenidos de las 6 medidas del contraste de moteado láser y velocidad utilizando una jeringuilla. Se mide el tiempo medio en variar 2 ml el contenido de la jeringuilla y se convierte a velocidad lineal en mm/s utilizando la expresión 2.1. K_1 y K_2 son el valor del contraste de moteado láser antes y durante el movimiento del fluido, respectivamente, junto con la desviación estándar de las medidas. ΔK es la variación del contraste de moteado láser.

Si se observan únicamente los valores de la columna K_2 , que representan las

3.2. RELACIÓN ENTRE VELOCIDAD Y CONTRASTE DE MOTEADO LÁSER 33

medidas del contraste de moteado láser cuando el agua circula, se observa un comportamiento respecto a la velocidad sin ninguna relación.

Por otro lado, si se hace uso de las expresiones (1.5) y (1.7) se obtiene un valor de velocidad de correlación en la expresión (3.1), utilizando un valor medio del contraste de moteado láser $\bar{K}_2 = 0,88$ y tiempo de exposición $T = 10$ ms:

$$0,88 = \sqrt{\frac{\tau}{2 \cdot 0,01 \text{ s}} \left(1 - e^{-2 \frac{0,01 \text{ s}}{\tau}}\right)} \Rightarrow \tau \approx 0,038 \text{ s}$$

$$v = \frac{\lambda}{2\pi\tau} = \frac{633 \times 10^{-6} \text{ mm}}{2\pi 0,038 \text{ s}} \approx 0,0026 \text{ mm s}^{-1} \quad (3.1)$$

Como se observa el valor de la velocidad de correlación no aporta un resultado útil. Además, sin tener en cuenta el valor inicial del contraste de moteado láser, K_1 , el modelo propuesto en la introducción llegaría a resultados muy parecidos para las velocidades mostradas en la Tabla 3.1 de $v = (230 \pm 30) \text{ mm s}^{-1}$ y $v = (580 \pm 60) \text{ mm s}^{-1}$.

Para corregir este efecto se procede como en el apartado anterior. Se toma como referencia el valor del contraste de moteado láser antes de que el fluido se mueva. De esta manera se utiliza la diferencia entre el valor del contraste de moteado láser estático y dinámico. Se ha obtenido la Figura 3.12, donde se muestra la relación entre velocidad lineal de fluido y la variación del contraste de moteado láser:

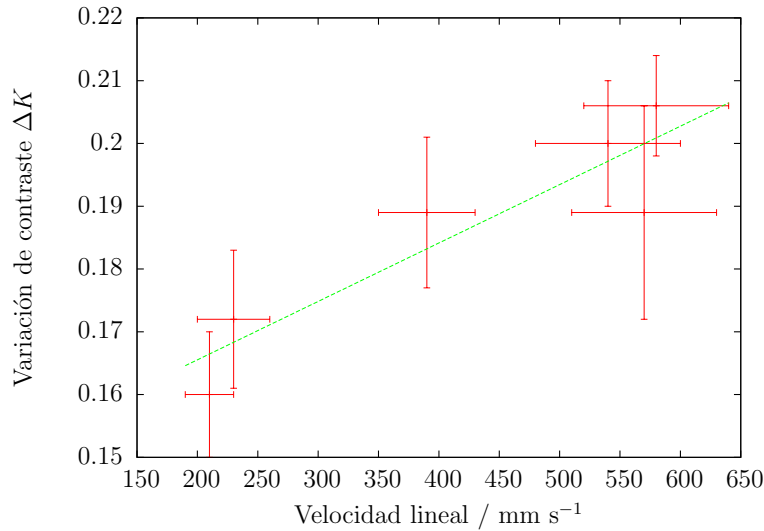


Figura 3.12: Se muestra la variación del contraste de moteado láser frente a distintos valores de velocidad lineal en el tubo en el que se realizan las medidas. Al visualizar los puntos experimentales aproximadamente lineales se ha realizado un ajuste por descenso de gradiente obteniendo una relación entre variación del contraste de moteado láser y velocidad lineal $K(v(\text{mm/s})) = (9 \pm 2) \times 10^{-5}v + (0,147 \pm 0,009)$.

A partir del ajuste de los datos de la Figura 3.12 se puede obtener la velocidad para una variación del contraste de moteado láser determinado, según la expresión (3.2):

$$v(\text{mm/s}) = (11000 \pm 2000)K - (1633 \pm 4) \quad (3.2)$$

3.3. Medida *in vivo*

Una vez logrado obtener una relación cuantificada entre variación del contraste de moteado láser y velocidad lineal se realizan dos medidas en el mismo dedo para analizar la posibilidad de obtener velocidades *in vivo*.

Las medidas se realizan en el mismo dedo pero en dos condiciones distintas: en una medida el dedo se ha rodeado de cinta para dificultar la circulación sanguínea y de esta manera comprobar que las medidas se deben al movimiento de la sangre y no al movimiento involuntario de la persona.

En las Figuras 3.13 y 3.14 se muestra el análisis espacial, utilizando el código mostrado en el Anexo I, apartado 5.1.2, de dos fotogramas aleatoriamente seleccionados de moteado láser con el dedo libre y con la cinta rodeando al dedo, respectivamente.

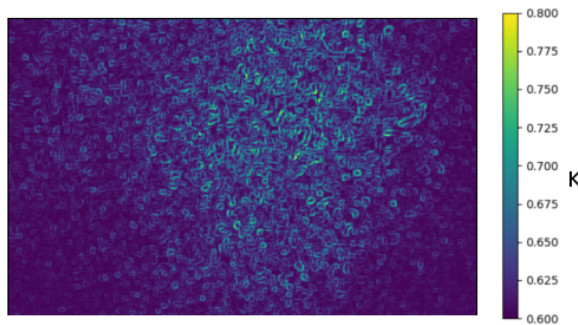


Figura 3.13: Se muestra el análisis del contraste de moteado láser espacial, utilizando una ventana de 7x7 píxeles, de un fotograma de la medida utilizando el dedo índice con flujo sanguíneo normal. Valor del contraste de moteado láser de toda la imagen: $K = 0,377$.

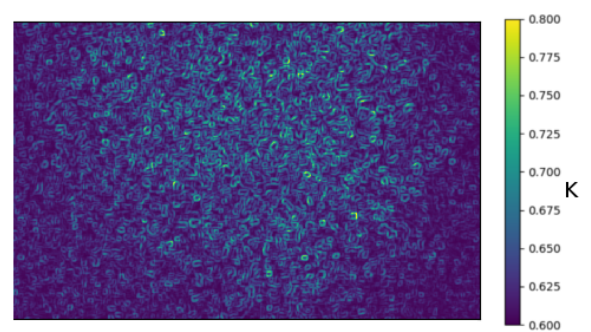


Figura 3.14: Se muestra el análisis del contraste de moteado láser espacial, utilizando una ventana de 7x7 píxeles, de un fotograma de la medida utilizando el dedo índice rodeado de cinta para disminuir el flujo sanguíneo. Valor del contraste de moteado láser de toda la imagen: $K = 0,355$.

Como se observa en las Figuras 3.13 y 3.14 se tiene un alto valor del contraste de moteado láser en la zona central de la imagen debido, posiblemente, a la superficie de la piel y tejidos estáticos. Sin embargo, como cabe esperar, en la imagen en la que el flujo sanguíneo es normal hay zonas con menor contraste de moteado láser representando movimiento mientras que en la imagen de la derecha el contraste de moteado láser es alto.

A diferencia del apartado anterior, no se pueden realizar medidas de la velocidad de la sangre en el dedo con otro método para compararlo. Sin embargo, se ha puesto de manifiesto la capacidad de medida del contraste de moteado láser *in vivo* del dispositivo experimental.

Capítulo 4

Discusión y conclusión

Al igual que en trabajos anteriores de medida de velocidades utilizando la técnica de análisis de patrón de moteado láser, se ha puesto de manifiesto la complejidad del experimento para la reproducibilidad de los resultados y la obtención de medidas cuantitativas.

Hasta el momento actual no se han logrado obtener medidas cuantitativas con discrepancias que permitan su uso en ámbitos médicos para la medida de velocidades de la sangre. Sin embargo, sí que existen dispositivos en el mercado que permiten realizar medidas de manera cualitativa o se encuentran calibrados, según la página web de *perimed instruments*[21].

Durante el análisis de los datos obtenidos en el experimento se pusieron de manifiesto variaciones en el valor del contraste cuando no existía movimiento en la muestra en las mismas condiciones. Este efecto se observa sobre todo en las Figuras 3.4 y 3.5 - 3.8.

Este efecto tiene un origen probable en flujos internos en las muestras, además de variaciones en la iluminación o región en la que se está realizando la medida debido a la sensibilidad a pequeños cambios de las características del patrón de moteado láser.

Para eliminar este efecto se ha optado por realizar un análisis utilizando la variación del contraste de moteado láser entre los valores cuando el sistema se encuentra con y sin movimiento. De esta manera, se ha logrado obtener la Figura 3.12 cumpliendo uno de los objetivos del experimento: obtener una relación entre velocidad y contraste de moteado láser.

Debido a la complejidad para medir velocidades de la sangre con otros métodos en el laboratorio no ha sido posible obtener resultados cuantitativos para las medidas *in vivo*. Sin embargo, se ha podido comprobar cualitativamente el descenso de los valores del contraste de moteado láser entre la medida con reducción de flujo sanguíneo al dedo y con el flujo normal. Además, en las Figuras 3.13 y 3.14 se observa la contribución de patrón estático debido a la piel y los tejidos inmóviles del dedo.

A partir de estos experimentos el siguiente paso es obtener un dispositivo experimental que permita realizar medidas de manera que la luz ambiental no introduzca errores en las medidas y conseguir resoluciones mayores para obtener imágenes de la circulación bajo la piel.

Por último, tanto la descripción teórica del modelo del patrón de moteado láser como la realización del experimento tiene una complejidad muy alta. Esto se traduce

en discrepancias entre el modelo y los valores medidos y falta de datos teóricos con errores que permitan su uso en entornos médicos.

Bibliografía

- [1] A. Fercher and J. Briers. Flow visualization by means of single-exposure speckle photography. *Optics Communications*, 37(5):326 – 330, 1981.
- [2] M. D. Catalano, F. P. Rivera, and R. A. Braga. Viability of biospeckle laser in mobile devices. *Optik*, 183:897 – 905, 2019.
- [3] A. K. D. David A. Boas. Laser speckle contrast imaging in biomedical optics. *Journal of Biomedical Optics*, 15, 01 2010.
- [4] L. Brunel, A. Brun, and P. Snabre. Microstructure movements study by dynamic speckle analysis. volume 6341, pages 634127–634127, 09 2006.
- [5] S. Ragol, I. Remer, Y. Shoham, S. Hazan, U. Willenz, I. Sinelnikov, V. Dronov, L. Rosenberg, and A. Bilenca. Static laser speckle contrast analysis for noninvasive burn diagnosis using a camera-phone imager. *Journal of biomedical optics*, 20:86009, 08 2015.
- [6] Y.-C. Huang, T. L. Ringold, J. S. Nelson, and B. Choi. Noninvasive blood flow imaging for real-time feedback during laser therapy of port wine stain birthmarks. *Lasers in Surgery and Medicine*, 40(3):167–173, 2008.
- [7] D. Briers, D. D Duncan, E. Hirst, S. Kirkpatrick, M. Larsson, W. Steenbergen, T. Stromberg, and O. Thompson. Laser speckle contrast imaging: Theoretical and practical limitations. *Journal of biomedical optics*, 18:66018, 06 2013.
- [8] A. A. t. Oglat. A review of medical doppler ultrasonography of blood flow in general and especially in common carotid artery. *Journal of medical ultrasound*, 03 2018.
- [9] M. Teferra. Electromagnetic blood flow meter: Review. *International Journal of Latest Research in Engineering & Technology*, 3:21–26, 04 2017.
- [10] R. H. Mohiaddin and D. J. Pennell. Mr blood flow measurement: Clinical application in the heart and circulation. *Cardiology Clinics*, 16(2):161 – 187, 1998.
- [11] A. Hecht. *Optics*. Pearson, 5 edition, 2017.
- [12] H. Rabal and R. Braga. *Dynamic Laser Speckle and Applications*. 01 2008.

- [13] J. W. Goodman. Some fundamental properties of speckle*. *J. Opt. Soc. Am.*, 66(11):1145–1150, Nov 1976.
- [14] S. J. Donald D. Can laser speckle flowmetry be made a quantitative tool? *Journal of the Optical Society of America. A, Optics, image science, and vision*, 25, 08 2008.
- [15] S. W. J. David Briers. Laser speckle contrast analysis (lasca): a nonscanning, full-field technique for monitoring capillary blood flow. *Journal of Biomedical Optics*, 1(2):174 – 179 – 6, 1996.
- [16] A. R. Young. Chromophores in human skin. *Physics in Medicine and Biology*, 42(5):789–802, may 1997.
- [17] R. R. Anderson and J. A. Parrish. The optics of human skin. *Journal of Investigative Dermatology*, 77(1):13 – 19, 1981.
- [18] S. Svanberg. *Atomic and Molecular Spectroscopy*. Fourth edition, 2003.
- [19] M. F. *et al.* Influence of oxygen saturation on the optical scattering properties of human red blood cells in the spectral range 250 to 2000 nm. *Journal of Biomedical Optics*, 14(3):1 – 6 – 6, 2009.
- [20] J. O. Smith. Definition of the simplest low-pass. https://ccrma.stanford.edu/tilde/jos/filters/Definition_Simplest_Low_Pass.html
Consulta: 2018-11-04.
- [21] PSI NR and HR - perimed. <https://www.perimed-instruments.com/product/psi-nr-hr/> Consulta: 2019-02-08.

Capítulo 5

Anexos

5.1. Anexo I. Código utilizado para el tratamiento de imágenes.

5.1.1. Captura continua del vídeo

Se ha escrito un programa en C para obtener el valor de la media, la desviación estándar y el contraste de patrón láser de la imagen capturada por la cámara, en tiempo real. Además, implementa un simple filtro de paso bajo.

```
/**
 *
 * uEye camera monochrome to obtain laser speckle contrast
 * David Iglesias Sanchez <davidiglesanchez@gmail.com>
 *
 * Edited code from: https://gist.github.com/ChristianUlbrich
 * Original code: https://gist.github.com/ChristianUlbrich/7871863
 *
 * Compile: gcc -Wall test_frame_capture.c -lueye_api -o recorder
 */
#include <string.h>
#include <math.h>
#include <stdio.h>
#include <stddef.h>
#include <ueye.h>
#include <time.h>
#include <ncurses.h>

FILE *fp;
HIDS hCam = 1;
char* pMem = NULL;
double ex = 5.0; // exposure in ms
double lp = 0.0; // Lowpass filter
double lastStd = -1;
```

```

double lastK = -1;
double FPS = 10.0; // 10 FPS
int memID = 0;
int WIDTH = 1280;
int HEIGHT = 1024;
INT colorMode = IS_CM_MONO8; // Color mono
struct timespec firstTime;
bool dropFirst = true;

double Kmax = 0;
double Kmin = 1000;
char filename[100] = "file.txt";

double currentMicroSecond() {
    struct timespec curr;
    clock_gettime(CLOCK_REALTIME, &curr);
    int _millis = (curr.tv_nsec / 1e6 - firstTime.tv_nsec / 1e6);
    int _secs = (curr.tv_sec - firstTime.tv_sec);
    return (double) (_secs + _millis / 1000.0);
}

void loadCam() {
    // Init the camera (pass the camera pointer)
    INT nRet = is_InitCamera (&hCam, NULL);
    printf("Status Init %d\n", nRet);

    // Set pixel clock
    UINT nPixelClockDefault = 21;
    nRet = is_PixelClock(hCam, IS_PIXELCLOCK_CMD_SET,
                        (void*)&nPixelClockDefault,
                        sizeof(nPixelClockDefault));

    printf("Status is_PixelClock %d\n", nRet);

    nRet = is_SetColorMode(hCam, colorMode);
    printf("Status SetColorMode %d\n", nRet);

    double realExp = 10.0;
    nRet = is_SetExposureTime(hCam, ex, &realExp);
    printf("Set exposure %d, real %f \n", nRet, realExp);

    // Allocate image memory...

    nRet = is_AllocImageMem(hCam, WIDTH, HEIGHT, 8, &pMem, &memID);
    printf("Status AllocImage %d\n", nRet);

```

5.1. ANEXO I. CÓDIGO UTILIZADO PARA EL TRATAMIENTO DE IMÁGENES.41

```
nRet = is_SetImageMem(hCam, pMem, memID);
printw("Status SetImageMem %d\n",nRet);

// Display mode black and white
INT displayMode = IS_SET_DM_DIB;
nRet = is_SetDisplayMode (hCam, displayMode);
printw("Status displayMode %d\n",nRet);

}

void takeShot() {
    // Check if error freezing video
    if (is_FreezeVideo(hCam, IS_WAIT) == IS_NO_SUCCESS) {
        printw("Error while freezing video");
    }

    double exposure;
    if (is_Exposure(hCam, IS_EXPOSURE_CMD_GET_EXPOSURE, &exposure, sizeof(exposure))
        printw("Error at exposure");
    }

    // Histogram buffer
    DWORD histBuffer [256];

    // Get histogram
    is_GetImageHistogram (hCam, memID, colorMode, histBuffer);

    // Get mean value of intensity using the imagen histogram
    double mean = 0.0;
    for (int i = 0; i < 256; i++) {
        mean += (double)histBuffer[i] * i;
    }
    mean /= WIDTH;
    mean /= HEIGHT;

    // Compute standard deviation using the imagen histogram
    float std = 0.0;
    for (int i = 0; i < 256; i++) {
        std += (int)histBuffer[i] * (i - mean) * (i - mean);
    }

    // Divide by pixels number
    std /= WIDTH;
    std /= HEIGHT;

    double stdd = sqrtf(std);
```

```

double K = stdd / mean;

// Lowpass filter: lp from 0 to 1
if (lp != 0.0 && lastK > -1) {
    K = lp * lastK + (1.0 - lp) * K;
}

// Print information
if (dropFirst) {
    dropFirst = false;
    printf("#");
} else {
    // To show porcentaje between min and max
    if (Kmax < K) {
        Kmax = K;
    }
    if (Kmin > K) {
        Kmin = K;
    }
}

double percent = (K - Kmin) / (Kmax - Kmin) * 100.0;
double currentT = currentMicroSecond();

fprintf(fp, "%f\t %f\t %f\t %f\t %f\n", currentT, mean, stdd, K, exposure);
mvprintw(0,0, "NAME: %s", filename);
mvprintw(9, 2, "percent = %f %", percent);
mvprintw(10, 2, "[%f] I = %f, std = %f, K = %f\n", currentT, mean, stdd, K);
mvprintw(11, 2, "Press any key to stop...");
refresh();

lastStd = std;

}

int main(int argc, char *argv[]) {
    initscr();
    // First time
    clock_gettime(CLOCK_REALTIME, &firstTime);

    int count=0;
    int r = 0 ;
    int nRet;
    int cam = 1;

```

```

// Arguments parser:
if (argc > 1) {
    for (count = 1; count < argc; count++) {
        printf("argv[%d] = %s\n", count, argv[count]);

        if (strcmp(argv[count], "exposure")==0) {
            if (argc<count+2) {
                printf("Exposure argument needs exposure param");
            } else {
                sscanf(argv[count+1], "%lf", &ex);
                printf("Exposure: %lf\n", ex);
            }
        }

        if (strcmp(argv[count], "lp")==0) { // Low pass filter argument
            if (argc < count + 2) {
                printf("lp argument needs low pass filter parameter. Use lowpass NUMBER.");
            } else {
                sscanf(argv[count+1], "%lf", &lp);
                printf("Lowpass: %lf\n", lp);
            }
        }

        if (strcmp(argv[count], "camera") == 0) { // Camera argument
            if (argc < count + 2) {
                printf("camera argument needs the camera id");
            } else {
                sscanf(argv[count+1], "%d", &cam);
                printf("Set camera %d\n", cam);
            }
        }
    }
}

// Get first time to set the time in the filename
sprintf(filename, "%f.txt", (double)firstTime.tv_sec);

fp = fopen(filename, "w");

if (fp == NULL)
{
    printf("Error opening file!\n");
}

// End arguments parser
hCam = cam;

```

```

printw("Success-Code: %d\n",IS_SUCCESS);

loadCam();

refresh(); // ncurses

fprintf(fp, "TIME\t MEAN\t STD DEV\t SPECKLE CONTRAST\t EXPOSURE \n");
printw("TIME\t MEAN\t STD DEV\t SPECKLE CONTRAST\t EXPOSURE \n");

refresh();
timeout(0);

clear(); // Print only data
while (1) {
    takeShot();
    if(getch() > -1) { // If any key pressed, exists!
        break;
    }
}

fclose(fp);

endwin(); // End ncurses window

is_ExitCamera(hCam);
}

```

5.1.2. Análisis espacial de una imagen.

Se ha escrito un programa en python para realizar el análisis espacial de una imagen, pudiendo variar el tamaño de la ventana usado para obtener la media y la desviación estándar del entorno de cada píxel.

```

from matplotlib.image import imread
from matplotlib.image import imsave
import matplotlib.pyplot as plt
import numpy as np

path = "4" # Folder

nombre = "flow" # Image name (only png and without extension)

imagen = imread(path + "/" + nombre + ".png")

width = len(imagen[0]) # Image width
height = len(imagen) # Image height

```


5.1. ANEXO I. CÓDIGO UTILIZADO PARA EL TRATAMIENTO DE IMÁGENES.45

```
window = 7                # Window size 7 = 7x7, 5 = 5x5...
medio = (window - 1) / 2 # Medium pixel position for window size
mapa = np.zeros((height - 2 * medio, width - 2 * medio))

mini = 1.0
maxi = 0.0
# Main loop in each image pixel (i,j)
for i in range(medio, height - medio):
    for j in range(medio, width - medio):
        valoresWindow = np.zeros((window, window))

        # Window analysis for current image pixel (k,l)
        for k in range(-medio, medio):
            for l in range(-medio, medio):
                valoresWindow[k + medio][l+medio] = imagen[i + k][j + l][0]
        mean = np.mean(valoresWindow)
        std = np.std(valoresWindow)
        K = std / mean

        mapa[i - medio][j - medio] = K

imshow(nombre + "-v", mapa)

im = plt.imshow(mapa, vmin=0.6, vmax=0.8)

plt.colorbar(im)
plt.show()
```